

اثر شدت و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم بر روی رشد و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و فتوسنتزی توتون (*Nicotiana tabacum* L.)

علی اصغر حاتم نیا^{۱*}، طاهره ولدبیگی^۱ و ناصر عباسپور^۲

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ^۲گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۲/۲۱)

چکیده:

شوری یک پدیده پیچیده می‌باشد که تنها سبب اثرات اسمزی نمی‌شود بلکه همچنین سبب اثرات سمی یونی و بهم خوردن تعادل مواد غذایی می‌شود. به منظور بررسی اثرات شدت و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و فتوسنتزی توتون آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در محیط کشت هیدروپونیک در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه اجرا گردید. در این مطالعه اثرات ۵ سطح کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و سه مرحله زمانی (۲، ۵ و ۱۲ روز) بررسی شد. نتایج نشان داد که تنش کلرید سدیم سبب کاهش وزن خشک و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد شده در حالی که محتوی پرولین نسبت به شاهد افزایش یافته است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش و اثرات متقابل تنش و زمان، اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بر روی میزان هدایت روزنه‌ای، تعرق، غلظت دی اکسید کربن و کارایی مصرف آب داشته است. سطوح کلرید سدیم و اثرات متقابل تنش و زمان اثر معنی‌داری بر روی میزان فتوستتز خالص و هدایت مزوفیلی داشته است. فتوستتز خالص، هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق، غلظت دی اکسید کربن بین سلولی و هدایت مزوفیلی در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد اعمال تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۷۴٪، ۹۷٪، ۹۰٪، ۴۸٪ و ۵۹٪ کاهش را نشان دادند. این نتایج نشان دادند که تحت تنش کلرید سدیم ممکن است محدودیت‌های روزنه‌ای عامل اصلی کاهش میزان فتوستتز در گیاه توتون باشند.

کلمات کلیدی: پرولین، شاخص‌های فتوسنتزی، کشت هیدروپونیک، هدایت روزنه‌ای، میزان تعرق

مقدمه:

گیرد (Stepien and Johnson, 2009; Kumar *et al.*, 2013).

تنش کلرید سدیم بقاء، زیست توده، اندازه و شکل گیاه را تحت تأثیر قرار داده و این تغییرات توانایی گیاه را در جذب نور، آب و مواد معدنی تغییر می‌دهد (Arzani, 2008). به عبارت دیگر تنش کلرید سدیم شایع‌ترین تنش زیستی در گیاهان می‌باشد. مهار رشد اولین و مهمترین پاسخ به کلرید سدیم بوده و رشد گیاه یکی از مهمترین شاخصه‌های کشاورزی در ارتباط با تنش کلرید سدیم می‌باشد که توسط

تنش‌های غیر زیستی به میزان زیادی رشد و تولیدات گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. تنش شوری حدود ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی کره زمین را تحت تأثیر قرار داده است (Kumar *et al.*, 2013). تنش کلرید سدیم سبب واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متنوعی در گیاهان می‌شود. در چنین شرایطی تقریباً همه فرآیندهای گیاهی از قبیل فتوستتز، سنتز پروتئین، انرژی و متابولیسم چربی‌ها تحت تأثیر قرار می

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: hatamniya60@gmail.com

به واسطه مواد تنظیم کننده رشد گیاهی تولید شده و در اندام هوایی و ریشه و همچنین ممانعت از انتقال دی اکسید کربن مزوفیلی تا تغییرات در فتوشیمی برگ و متابولیسم کربن گسترده می‌باشد. این اثرات با شدت و مدت زمان تنش و همچنین با سن برگ و نوع گونه گیاهی متناسب هستند (Chaves et al., 2009).

تنش کلرید سدیم باعث تخریب ساختار کلروپلاست، تجزیه رنگیزه‌های کلروفیلی و تغییر در محتوی کاروتنوئیدها می‌شود (Ben-Asher et al., 2006). کاهش میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تنش کلرید سدیم می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز یا کاهش نسبی سنتز کلروفیل باشد (Gunes et al., 2007).

تحت شرایط تنش کلرید سدیم، پرولین اثرات زیستی متعددی را ایفا می‌کند، به طوری که مطالعات زیادی نشان می‌دهد که پرولین در تعدیل اسمزی داخل سلولی بین سیتوپلاسم و واکوئل دخالت می‌کند. علاوه بر این پرولین به عنوان مولکول‌های چاپرونی عمل کرده که سبب محافظت از ساختار پروتئین‌ها و آنزیم‌های سلولی می‌شوند و به این طریق باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها تحت تنش کلرید سدیم می‌شود. از طرف دیگر پرولین سبب جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن شده و سلول‌ها را از آسیب‌های وارد شده بوسیله تنش حفظ می‌کند (Banu et al., 2009; Szabados and Savoure, 2009). بنابراین، این مطالعه به منظور بررسی اثرات شدت و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم روی برخی از شاخص‌های رشدی، بیوشیمیایی و فتوسنتزی توتون انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

برای انجام این پژوهش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۰ در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه اجرا گردید. ژنوتیپ Basma S.31 توتون از مرکز تحقیقات توتون ارومیه تهیه شد. مراحل اولیه کاشت بذرها، جوانه‌زنی و رشد دانه رست‌ها تا مرحله دو برگی در داخل مخلوطی از پیت و پرلیت (به نسبت ۱ به ۱)

مطالعات فراوانی اثبات شده است (Parida and Das, 2005). فتوسنتز همراه با رشد سلولی جزء اولین فرایندهایی هستند که تحت تأثیر کلرید سدیم قرار می‌گیرند (Munns et al., 2006). اثرات کلرید سدیم روی فتوسنتز به می‌تواند به صورت اثرات مستقیم و غیر مستقیم باشد که اثرات مستقیم روی فتوسنتز به واسطه کاهش دی اکسید کربن قابل دسترس از طریق اعمال محدودیت‌هایی روی انتشار دی اکسید کربن از طریق روزنه‌ها در سلول‌های مزوفیل و یا از طریق اختلال در متابولیسم فتوسنتزی می‌باشد و اثرات غیر مستقیم روی فتوسنتز از طریق تنش اکسیداتیو اعمال می‌شود (Chaves et al., 2009). عوامل روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای در تنش کلرید سدیم باعث کاهش فتوسنتز می‌شود که عوامل روزنه‌ای به علت بسته شدن روزنه‌ها، خود ناشی از کاهش هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق، غلظت دی اکسید کربن داخلی و فتوسنتز خالص می‌باشد (Lu et al., 2009). و عوامل غیر روزنه‌ای شامل کاهش فعالیت PSII، انتقال الکترون و فسفوریلاسیون نوری است (Das Neves et al., 2008).

پاسخ فتوسنتز به تنش کلرید سدیم بسیار پیچیده است. شدت، مدت و میزان تنش کلرید سدیم پاسخ‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به عبارت دیگر فاکتورهای مذکور هستند که وجود یا عدم وجود فرآیندهای سازگاری در گیاهان را تعیین می‌کنند. پاسخ‌های سازگاری تحت تنش زمانی که فتوسنتز مستقیماً تحت تأثیر قرار نگرفته شامل سنتز مواد محلول سازگار و همچنین تعدیل در انتقال یون‌ها (از قبیل جذب، خروج و انباشتگی یون‌ها) می‌باشد. این پاسخ‌های گیاهی سرانجام منجر به هموستازی دوباره سلولی، سمیت زدایی و بنابراین بقاء گیاه تحت تنش کلرید سدیم می‌گردند. به هر حال زمانی که میزان و شدت تنش کم بوده و به میزان کمی فتوسنتز و رشد سلولی تحت تأثیر قرار می‌گیرد، تولید مواد اسموتیک یکی از مکانیسم‌هایی است که سلول گیاهی انجام می‌دهد و به واسطه آن سبب حفظ جذب آب و فشار تورژسانس تحت تنش کلرید سدیم می‌شود. اثرات کلرید سدیم روی فتوسنتز متنوع بوده و محدود کردن انتشار دی اکسید کربن به کلروپلاست از طریق ممانعت از باز شدن روزنه

$$\text{Chl } b = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

$$C_{X+C} = 1000 A_{470} - 2.270 \text{ Chl } a - 81.4 \text{ Chl } b / 227$$

اندازه‌گیری پارامترهای فتوسنتزی با استفاده از سیستم hcm-1000 ساخت شرکت WALZ (آلمان) انجام گرفت. پارامترهایی که در این تحقیق مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند شامل میزان فتوستنتر خالص (Pn)، هدایت روزنه‌ای (Gs)، میزان تعرق روزنه‌ای (Tr)، میزان دی اکسید کربن بین سلولی (Ci)، هدایت مزوفیلی و کارایی مصرف آب لحظه‌ای بودند. هدایت مزوفیلی با تقسیم فتوستنتر به میزان دی اکسید کربن بین سلولی و کارایی مصرف آب لحظه‌ای با تقسیم فتوستنتر به میزان تعرق محاسبه شد. در طول اندازه‌گیری شدت نور و دمای محفظه‌ای که برگ داخل آن قرار می‌گرفت ثابت و به ترتیب $1500 \mu\text{mol/m}^2 \text{ s}$ و $33-30$ درجه سانتی‌گراد بود. سطح برگ که داخل محفظه قرار می‌گرفت 5 سانتی‌متر مربع بود. در این مطالعه اندازه‌گیری فتوستنتر در سه مرحله (روزهای ۲، ۵ و ۱۲ بعد از اعمال تنش) انجام گرفت و تغییرات شاخص‌های فتوسنتزی نه تنها با توجه به سطح تنش کلرید سدیم بلکه همچنین با توجه به مدت زمان تنش اعمال شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز آماری: برای همه آزمایش‌های انجام شده سه تکرار در نظر گرفته شد. اختلاف بین سطوح مختلف کلرید سدیم با استفاده از آنالیز واریانس تک سویه (ANOVA) و تست Tukey در سطح آماری 5% (درصد $p < 0.05$) آنالیز گردید. همچنین برای تجزیه واریانس اثر سطوح کلرید سدیم، زمان-های متفاوت اعمال تنش کلرید سدیم و اثرات متقابل آنها از تست GLM (General Linear Mode) استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد.

نتایج:

وزن خشک اندام هوایی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که سطوح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش و اثرات متقابل تنش و زمان تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال 1% بر روی وزن خشک اندام هوایی داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش سطح کلرید سدیم وزن خشک اندام هوایی کاهش یافته است (جدول ۲). نتایج حاصله نشان

انجام گرفت. دانه رست‌ها بعد از مرحله دو برگی به گلدان‌های ۲ لیتری حاوی محلول هوگلند در فیتوترون پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه منتقل شدند. بعد از ۳۰ روز که گیاهان در محیط آب کشت (هیدروپونیک) رشد کردند و به مرحله ۵ برگی رسیدند، تنش کلرید سدیم اعمال شد. برای اعمال تنش کلرید سدیم از سطوح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم استفاده گردید. تنش اعمال شده در سه مرحله زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه انجام و بعد از هر زمان اندازه‌گیری‌ها و نمونه برداری‌های مربوطه صورت گرفت.

برای اندازه‌گیری محتوی پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. بر اساس این روش ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تر برگ توزین شده و با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ در هاون ساییده شد و سپس مخلوط حاصله توسط کاغذ صافی واتمن صاف گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصله ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت یک ساعت داخل بن ماری 100 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا رنگ آجری نمایان شود. سپس لوله‌ها داخل آب یخ قرار داده شده و به هر کدام از لوله‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید. بعد از بهم زدن محتویات لوله‌ها، دو فاز تشکیل شد و سپس از فاز رویی توسط پیپت پاستور نمونه‌برداری گردید. میزان جذب پرولین با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 520 nm اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری رنگی‌های فتوسنتزی از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۵) استفاده شد. به این ترتیب که 0.1 گرم از وزن تر برگ به همراه ۵ میلی‌لیتر استون 100% در صد در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در 2500 دور سانتریفیوژ شد. سپس جذب فاز بالایی هر یک از نمونه‌های سانتریفیوژ شده توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های 662 nm ، 645 nm و 470 nm خوانده شد. برای محاسبه کلروفیل a، کلروفیل b و کاراتنوئیدها از فرمول ذیل استفاده گردید (A) میزان جذب خوانده شده در هر طول موج توسط اسپکتروفتومتر می‌باشد):

$$\text{Chl } a = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر سطوح کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم)، مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم (۲، ۵ و ۱۲ روز) و اثر متقابل آنها بر شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه توتون.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					a/b
		وزن خشک	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	کلروفیل کل
مدت زمان اعمال تنش	۲	۰/۰۳**	۲۷۴/۰۷**	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}
تیمار کلرید سدیم	۴	۱/۰۲**	۶۱۶/۱۳**	۳/۱۴**	۰/۵۸۹**	۰/۰۷۷**	۶/۴**
اثر متقابل تنش و زمان	۸	۰/۱۲**	۲۶/۰۹**	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۰۰۹*	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۱۷*
خطا	۳۰	۰/۰۰۴	۱/۹۴	۰/۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۷۶
ضریب تغییرات (درصد)		۵/۹	۷/۵	۳/۲	۳/۷	۲	۳/۲

^{ns} غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سطوح کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم (۲، ۵ و ۱۲ روز) برای شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه توتون

مدت زمان تنش	سطح کلرید سدیم	وزن خشک (گرم)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۲ روز	۰	۱/۰۵ ± ۰/۰۴ ^{de*}	۷/۱۰ ± ۰/۱۷ ⁱ	۰/۹۷ ± ۰/۰۲ ^d	۳/۷۱ ± ۰/۱۳ ^{cde}
	۵۰	۰/۹۳ ± ۰/۰۲ ^{def}	۸/۹۶ ± ۰/۱۶ ⁱ	۱/۱۶ ± ۰/۰۵ ^{abc}	۴/۵۰ ± ۰/۲۰ ^{abc}
	۱۰۰	۰/۸۷ ± ۰/۰۳ ^{efg}	۱۳/۳۶ ± ۰/۵۲ ^{gh}	۱/۱۲ ± ۰/۰۵ ^{abc}	۴/۳۱ ± ۰/۱۲ ^{abc}
	۱۵۰	۰/۷۹ ± ۰/۰۶ ^{fgh}	۱۵/۸۵ ± ۰/۴۶ ^{fg}	۰/۷۸ ± ۰/۰۲ ^e	۳/۳۲ ± ۰/۱۴ ^{def}
	۲۰۰	۰/۵۷ ± ۰/۰۲ ^{ijk}	۲۲/۱۶ ± ۱/۱۰ ^{de}	۰/۶۸ ± ۰/۰۱ ^{ef}	۲/۸۲ ± ۰/۱۵ ^{fg}
۵ روز	۰	۱/۲۶ ± ۰/۰۵ ^{bc}	۷/۲۳ ± ۰/۴۱ ⁱ	۱/۰۲ ± ۰/۰۲ ^{cd}	۳/۸۷ ± ۰/۰۸ ^{bcd}
	۵۰	۱/۱۰ ± ۰/۰۲ ^{cd}	۱۰/۳۳ ± ۰/۳۲ ^{hi}	۱/۲۱ ± ۰/۰۴ ^{ab}	۴/۶۶ ± ۰/۱۸ ^{ab}
	۱۰۰	۰/۹۴ ± ۰/۰۵ ^{def}	۱۶/۴۷ ± ۰/۵۹ ^{fg}	۱/۱۵ ± ۰/۰۵ ^{abc}	۳/۹۹ ± ۰/۰۴ ^{bcd}
	۱۵۰	۰/۷۲ ± ۰/۰۳ ^{ghi}	۱۸/۶۱ ± ۰/۳۶ ^{ef}	۰/۷۵ ± ۰/۰۲ ^e	۲/۹۷ ± ۰/۱۲ ^{efg}
	۲۰۰	۰/۵۲ ± ۰/۰۲ ^{jk}	۲۶/۲۵ ± ۰/۸۷ ^{bc}	۰/۶۱ ± ۰/۰۱ ^{ef}	۲/۵۹ ± ۰/۱۸ ^{fg}
۱۲ روز	۰	۱/۴۷ ± ۰/۰۳ ^a	۷/۵۶ ± ۰/۱۹ ⁱ	۱/۰۵ ± ۰/۰۸ ^{bcd}	۴/۱۵ ± ۰/۲۲ ^{bcd}
	۵۰	۱/۲۹ ± ۰/۰۳ ^b	۱۳/۲۹ ± ۰/۲۶ ^{gh}	۱/۲۹ ± ۰/۱۰ ^a	۵/۱۰ ± ۰/۱۹ ^a
	۱۰۰	۰/۶۸ ± ۰/۰۳ ^{hij}	۲۳/۲۵ ± ۰/۴۹ ^{cd}	۱/۰۶ ± ۰/۰۷ ^{bcd}	۴/۰۱ ± ۰/۱۴ ^{bcd}
	۱۵۰	۰/۴۳ ± ۰/۰۲ ^k	۲۹/۰۰ ± ۰/۸۵ ^b	۰/۶۹ ± ۰/۰۵ ^{ef}	۲/۹۴ ± ۰/۱۸ ^{efg}
	۲۰۰	۰/۲۱ ± ۰/۰۲ ^m	۳۵/۵۹ ± ۱/۷۹ ^a	۰/۵۵ ± ۰/۰۵ ^f	۲/۴۸ ± ۰/۱۶ ^g

* برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون Tukey در سطح احتمال ۵٪ از نظر آماری فاقد تفاوت معنی‌دار هستند. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است.

داد که بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار شاهد در روز ۱۲ بعد اعمال تنش (۱/۴۷ گرم) و کمترین آن مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در روز ۱۲ بعد اعمال تنش (۰/۲۱ گرم) می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که وزن خشک اندام هوایی در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه به

جدول ۳- مقایسه میانگین مربوط به رنگی‌های فتوسنتزی در سطوح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار NaCl (۱۲ روز بعد از شروع تنش شوری).

مدت زمان تنش	سطح شوری	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل a/b	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۱۲ روز	۰	۳/۰۷ ± ۰/۱۹ ^{ab*}	۲/۸۴ ± ۰/۱۶ ^b	۰/۵۴ ± ۰/۰۳ ^b
	۵۰	۳/۸۳ ± ۰/۲۱ ^a	۳/۰۳ ± ۰/۲۳ ^a	۰/۶۸ ± ۰/۰۸ ^a
	۱۰۰	۲/۹۵ ± ۰/۱۱ ^b	۲/۸۱ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۷۱ ± ۰/۰۵ ^a
	۱۵۰	۲/۲۵ ± ۰/۲۰ ^{bc}	۳/۲۵ ± ۰/۳۸ ^a	۰/۶۸ ± ۰/۰۲ ^a
	۲۰۰	۱/۹۲ ± ۰/۱۳ ^c	۳/۴۹ ± ۰/۲۹ ^a	۰/۵۰ ± ۰/۰۲ ^b

* ستون‌های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌های مربوط به هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

ترتیب ۰/۴۶، ۵۹٪ و ۸۵٪ کاهش یافته است (جدول ۲).

محتوی پرولین: سطوح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش و اثرات متقابل تنش و زمان تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بر روی محتوی پرولین دارد (جدول ۱). سطوح مختلف کلرید سدیم تأثیر معنی‌داری روی محتوی پرولین برگ داشته است ($p < ۰/۰۵$)، به طوری‌که مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم محتوی پرولین برگ افزایش یافته است (جدول ۲). محتوی پرولین برگ در روز ۱۲ بعد از اعمال تنش کلرید سدیم در سطوح بالا (۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) در مقایسه با شاهد ۴/۷ برابر افزایش یافته است. نتایج نشان داد که محتوی پرولین برگ با افزایش مدت زمان تنش کلرید سدیم افزایش یافته است، به طوری‌که بیشترین کمترین محتوی پرولین به ترتیب در ۱۲ و ۲ روز بعد از شروع تنش مشاهده شد. محتوی پرولین برگ در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه به ترتیب حدود ۳/۱، ۳/۹ و ۴/۷ برابر بود (جدول ۲).

رنگی‌های فتوسنتزی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که سطوح کلرید سدیم تأثیر معنی‌داری در سطح ۱٪ بر روی میزان رنگی‌های فتوسنتزی داشته است. با این حال مدت زمان اعمال تنش تأثیر معنی‌دار روی هیچکدام از رنگی‌ها نداشته و اثرات متقابل تنش و زمان تنها روی میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج حاصله نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b در

سطح ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد از اعمال تنش (۱/۲۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد و سپس میزان کلروفیل b کاهش می‌یابد به طوری‌که کمترین میزان کلروفیل b در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد از اعمال تنش (۰/۵۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۲).

مقایسه میانگین مربوط به سطوح شوری نشان داد که میزان کلروفیل a به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کلرید سدیم قرار گرفت، به طوری‌که در سطح ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد افزایش میزان کلروفیل a مشاهده شد، ولی از سطح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش کلروفیل a مشاهده گردید. بیشترین کاهش کلروفیل a در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (۱/۹۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۳).

مقایسه میانگین مربوط به سطوح شوری نشان داد که میزان کاروتنوئیدها به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف تنش قرار گرفت. با افزایش سطح کلرید سدیم میزان کاروتنوئیدها تا ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد افزایش و سپس کاهش یافته، به طوری‌که بیشترین میزان کاروتنوئیدها در ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم گزارش گردید (۰/۷۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) که نسبت به شاهد ۱/۳۱ برابر افزایش یافته است (جدول ۳).

نتایج حاصله نشان داد که بیشترین میزان محتوی کلروفیل

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر سطوح کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم)، مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم (۲، ۵ و ۱۲ روز) و اثر متقابل آنها بر شاخص‌های فتوسنتزی گیاه توتون.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		فتوستتزر خالص	هدایت روزنه‌ای	تعرق	غلظت CO ₂	هدایت مزوفیلی
مدت زمان اعمال تنش	۲	۰/۰۴ ^{ns}	۲۲۸/۱۲ ^{**}	۲/۱۲ ^{**}	۲۴۵/۰۲ [*]	۱۴۴۶۰ ^{ns}
تیمار کلرید سدیم	۴	۱۳/۳۴ ^{**}	۲۷۲۱/۹۵ ^{**}	۵/۱۴ ^{**}	۳۸۳۹/۶۱ ^{**}	۱/۲ ^{**}
اثر متقابل تنش و زمان	۸	۰/۴۱ ^{**}	۹۸/۹۱ ^{**}	۰/۲۱ ^{**}	۲۴۴/۸۷ ^{**}	۱۳۲۹۰ [*]
خطا	۳۰	۰/۰۷	۹/۷۸	۰/۰۲	۴۹/۹۱	۵۶۰/۱۱
ضریب تغییرات (درصد)		۶/۷	۹/۳	۷/۵	۲/۶	۴/۷
						۸/۴

^{ns} غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱.

کل در سطح ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد از اعمال تنش (۵/۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد از اعمال تنش (۲/۴۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۲). مقایسه میانگین مربوط به سطوح شوری نشان داد که نسبت کلروفیل a به b به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف تنش قرار گرفته است (جدول ۳).

شاخص‌های فتوسنتزی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اگر چه سطوح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش و اثرات متقابل تنش و زمان اثر معنی‌داری روی میزان فتوستتزر خالص، هدایت روزنه‌ای، تعرق، غلظت دی اکسید کربن بین سلولی و کارایی مصرف آب لحظه‌ای داشت، اما در صفت فتوستتزر خالص و هدایت مزوفیلی اثر مدت زمان اعمال تنش معنی دار نبود (جدول ۴).

نتایج نشان داد که کمترین و بیشترین میزان فتوستتزر خالص به ترتیب مربوط به روز ۱۲ بعد از اعمال تنش در سطوح تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (۱/۱۳ میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه) و شاهد (۴/۶۴ میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه) می‌باشد (جدول ۵). با افزایش سطح کلرید سدیم کاهش معنی‌داری در میزان هدایت روزنه‌ای در سه دوره زمانی اعمال تنش مشاهده شد. در سه دوره زمانی اعمال تنش کلرید سدیم اختلاف معنی‌داری بین سطوح ۰ و ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در میزان هدایت

روزنه‌ای مشاهده نشد، ولی در سطوح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش شدید در میزان هدایت روزنه‌ای مشاهده شد. میزان کاهش هدایت روزنه‌ای در سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در دوره سوم (۱۲ روز) بعد از اعمال تنش نسبت به شاهد حدود ۹۷٪ بود (جدول ۵). میزان هدایت روزنه‌ای با افزایش مدت زمان تنش کلرید سدیم کاهش یافت، به طوری‌که بیشترین و کمترین کاهش میزان هدایت روزنه‌ای به ترتیب در ۱۲ و ۲ روز بعد از شروع تنش مشاهده شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان هدایت روزنه‌ای در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روز بعد از شروع تنش کلرید سدیم به ترتیب ۷۳٪، ۹۰٪ و ۹۷٪ کاهش یافت. در این تحقیق نه تنها بین سطوح مختلف کلرید سدیم بلکه همچنین بین زمان‌های متفاوت اعمال تنش اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۵). تعرق بین سطوح ۰ و ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در سه دوره زمانی مشاهده نشد، ولی در سطح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش شدید در میزان تعرق مشاهده شد. در سطوح افزایش سطح کلرید سدیم و میزان مدت تنش میزان تعرق کاهش یافته است، با این وجود اختلاف معنی‌داری در میزان سطوح مختلف کلرید سدیم و مدت زمان تنش تأثیر معنی‌داری روی میزان تعرق داشتند ($p < 0.05$). به طوری‌که با ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (۱۲ روز بعد اعمال تنش) کاهش در میزان تعرق به ترتیب

جدول ۵- اثر سطح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم و برهمکنش آنها بر شاخص‌های فتوسنتزی در گیاه توتون

کلرید سدیم (میلی مولار)	مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم			میانگین
	۲ روز	۵ روز	۱۲ روز	
فتوسنتز خالص (میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه)				
۰	۳/۶۸ ±۰/۲۴ ^{b*}	۳/۸۴ ±۰/۲۴ ^{ab}	۴/۶۴ ±۰/۱۱ ^a	۴/۰۵ ±۰/۱۹ ^A
۵۰	۳/۲۸ ±۰/۱۲ ^{bc}	۳/۶۳ ±۰/۱۵ ^b	۳/۹۱ ±۰/۲۵ ^{ab}	۳/۶۰ ±۰/۱۷ ^B
۱۰۰	۲/۳۱ ±۰/۱۶ ^{de}	۲/۵۸ ±۰/۱۲ ^{cd}	۲/۰۵ ±۰/۱۲ ^{def}	۲/۳۱ ±۰/۱۶ ^C
۱۵۰	۱/۸۰ ±۰/۰۶ ^{efg}	۱/۶۱ ±۰/۰۸ ^{efg}	۱/۲۰ ±۰/۱۴ ^g	۱/۵۳ ±۰/۰۹ ^D
۲۰۰	۱/۴۹ ±۱/۳۱ ^{fg}	۱/۳۹ ±۰/۱۳ ^{fg}	۱/۱۳ ±۰/۱۳ ^g	۱/۳۴ ±۰/۱۶ ^D
میانگین	۲/۵۱ ±۰/۲۳ ^A	۲/۶۱ ±۰/۲۷ ^A	۲/۵۷ ±۰/۳۹ ^A	
هدایت روزنه‌ای (میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه)				
۰	۴۶/۴۰ ±۱/۸۱ ^{ab}	۴۷/۲۳ ±۱/۵۳ ^{ab}	۵۱/۴۶ ±۲/۵۳ ^a	۴۸/۳۷ ±۱/۹۶ ^A
۵۰	۳۹/۱۰ ±۱/۸۴ ^{bc}	۳۹/۱۳ ±۲/۸۸ ^{bc}	۴۰/۷۳ ±۱/۹۴ ^b	۳۹/۵۶ ±۲/۳۲ ^B
۱۰۰	۳۰/۳۶ ±۱/۶۳ ^{cd}	۲۶/۲۳ ±۱/۰۱ ^{de}	۱۷/۳۰ ±۲/۰۳ ^{ef}	۲۴/۶۳ ±۱/۵۶ ^C
۱۵۰	۲۶/۴۱ ±۱/۹۵ ^{de}	۸/۶۵ ±۱/۵۶ ^{fgh}	۵/۳۰ ±۲/۱۰ ^{gh}	۱۳/۴۵ ±۱/۸۵ ^D
۲۰۰	۱۲/۵۶ ±۱/۲۴ ^{fg}	۵/۴۷ ±۰/۸۱ ^{gh}	۲/۶۰ ±۰/۸۳ ^h	۶/۸۸ ±۱/۰۲ ^E
میانگین	۳۰/۹۷ ±۳/۱۴ ^A	۲۵/۳۴ ±۴/۴۲ ^B	۲۳/۴۸ ±۵/۲۴ ^B	
تعرق (میلی مول بر متر مربع بر ثانیه)				
۰	۲/۴۲ ±۰/۱۰ ^a	۲/۱۱ ±۰/۱۲ ^{abc}	۲/۲۱ ±۰/۰۴ ^{ab}	۲/۲۵ ±۰/۰۹ ^A
۵۰	۲/۴۲ ±۰/۰۵ ^a	۲/۰۶ ±۰/۱۱ ^{abc}	۲/۱۲ ±۰/۰۶ ^{abc}	۲/۲۰ ±۰/۰۷ ^A
۱۰۰	۲/۱۷ ±۰/۰۹ ^{abc}	۱/۷۳ ±۰/۰۳ ^{cd}	۱/۲۶ ±۰/۱۲ ^{de}	۱/۷۲ ±۰/۰۸ ^B
۱۵۰	۱/۸۵ ±۰/۰۴ ^{bc}	۰/۷۳ ±۰/۱۲ ^{fg}	۰/۳۸ ±۰/۰۸ ^{gh}	۰/۹۹ ±۰/۰۸ ^C
۲۰۰	۰/۹۳ ±۰/۱۴ ^{ef}	۰/۴۶ ±۰/۰۹ ^{fgh}	۰/۲۰ ±۰/۰۲ ^h	۰/۵۳ ±۰/۰۹ ^D
میانگین	۱/۹۶ ±۰/۱۵ ^A	۱/۴۲ ±۰/۱۸ ^B	۱/۲۳ ±۰/۲۲ ^C	
غلظت دی اکسید کربن (میکرو مول بر مول)				
۰	۱۳۹/۱۳ ±۵/۹۴ ^b	۱۴۲/۴۷ ±۵/۱۹ ^{ab}	۱۶۰/۵۳ ±۵/۲۰ ^a	۱۴۷/۳۷ ±۵/۴۴ ^A
۵۰	۱۳۳/۰۷ ±۵/۲۳ ^{bc}	۱۲۲/۰۷ ±۵/۳۳ ^{bcd}	۱۲۸/۸۰ ±۴/۴۸ ^{bcd}	۱۲۷/۹۷ ±۵/۰۱ ^B
۱۰۰	۱۲۳/۱۰ ±۲/۵۴ ^{bcd}	۱۱۰/۴۳ ±۴/۲۴ ^{def}	۱۱۲/۰۷ ±۴/۳۳ ^{cde}	۱۱۵/۲۰ ±۳/۷۱ ^C
۱۵۰	۱۱۲/۷۰ ±۳/۶۹ ^{cde}	۱۰۶/۰۳ ±۲/۲۵ ^{ef}	۹۵/۹۳ ±۲/۲۸ ^{fg}	۱۰۴/۸۹ ±۲/۷۴ ^D
۲۰۰	۱۰۴/۹۳ ±۲/۴۸ ^{ef}	۹۵/۲۶ ±۲/۳۹ ^{fg}	۸۲/۵۴ ±۲/۳۳ ^g	۹۴/۲۵ ±۲/۴۲ ^E
میانگین	۱۲۲/۵۹ ±۳/۷۲ ^A	۱۱۵/۲۵ ±۴/۵۷ ^B	۱۱۵/۹۸ ±۳/۸۵ ^B	

* برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون Tukey در سطح احتمال ۵٪ از نظر آماری فاقد تفاوت معنی‌دار هستند. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است.

حدود ۸۲٪ و ۹۰٪ گزارش گردید (جدول ۵). نتایج حاصل از معنی‌داری در سطح ۵٪ بر روی میزان تعرق داشت و همچنین تجزیه واریانس نشان داد که مدت زمان اعمال تنش تأثیر افزایش مدت زمان اعمال تنش کاهش میزان تعرق را به همراه

جدول ۶- اثر سطح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم و برهمکنش آنها بر هدایت مزوفیلی و کارایی مصرف آب لحظه‌ای در گیاه توتون

کلرید سدیم (مولار)	مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم			میانگین
	۲ روز	۵ روز	۱۲ روز	
هدایت مزوفیلی (میلی مول دی اکسید کربن بر متر مربع بر ثانیه)				
۰	۰/۰۲۶ ± ۰/۰۰۲ ^{ab*}	۰/۰۲۷ ± ۰/۰۰۱۴ ^a	۰/۰۲۹ ± ۰/۰۰۰۸ ^a	۰/۰۲۷ ± ۰/۰۰۰۸ ^A
۵۰	۰/۰۲۴ ± ۰/۰۰۰۹ ^{abc}	۰/۰۳۰ ± ۰/۰۰۲۳ ^a	۰/۰۳۰ ± ۰/۰۰۱۰ ^a	۰/۰۲۸ ± ۰/۰۰۱۱ ^A
۱۰۰	۰/۰۱۸ ± ۰/۰۰۱۷ ^{bcd}	۰/۰۲۳ ± ۰/۰۰۰۶ ^{abc}	۰/۰۱۸ ± ۰/۰۰۱۳ ^{cde}	۰/۰۲۰ ± ۰/۰۰۰۱ ^B
۱۵۰	۰/۰۱۶ ± ۰/۰۰۰۱ ^{de}	۰/۰۱۵ ± ۰/۰۰۰۱ ^e	۰/۰۱۲ ± ۰/۰۰۱۸ ^e	۰/۰۱۷ ± ۰/۰۰۲۵ ^C
۲۰۰	۰/۰۱۴ ± ۰/۰۰۱۳ ^e	۰/۰۱۴ ± ۰/۰۰۱۱ ^e	۰/۰۱۲ ± ۰/۰۰۰۲ ^e	۰/۰۱۴ ± ۰/۰۰۲۳ ^C
میانگین	۰/۰۲۰ ± ۰/۰۰۱۴ ^A	۰/۰۲۲ ± ۰/۰۰۱۷ ^A	۰/۰۲۱ ± ۰/۰۰۰۲ ^A	
کارایی مصرف آب لحظه‌ای (میکرومول دی اکسید کربن بر مول آب)				
۰	۱/۵۲ ± ۰/۰۰۹ ^{bcd}	۱/۸۳ ± ۰/۰۱۸ ^{bcd}	۲/۱۰ ± ۰/۰۰۳ ^{bcd}	۱/۸۱ ± ۰/۰۱۱ ^A
۵۰	۱/۳۵ ± ۰/۰۰۷ ^{cd}	۱/۷۷ ± ۰/۰۱۶ ^{bcd}	۱/۸۵ ± ۰/۰۱۶ ^{bcd}	۱/۶۶ ± ۰/۰۱۵ ^B
۱۰۰	۱/۰۶ ± ۰/۰۰۳ ^d	۱/۴۹ ± ۰/۰۰۹ ^{cd}	۱/۶۴ ± ۰/۰۱۸ ^{bcd}	۱/۴۰ ± ۰/۰۱۲ ^B
۱۵۰	۰/۹۷ ± ۰/۰۰۶ ^d	۲/۳۷ ± ۰/۰۵۴ ^{bcd}	۳/۴۴ ± ۰/۰۸۰ ^b	۲/۲۶ ± ۰/۰۴۸ ^B
۲۰۰	۱/۶۶ ± ۰/۰۲۶ ^{bcd}	۳/۱۸ ± ۰/۰۵۳ ^{bc}	۵/۵۶ ± ۰/۰۷۹ ^a	۳/۴۷ ± ۰/۰۵۷ ^B
میانگین	۱/۳۱ ± ۰/۰۰۸ ^C	۲/۱۳ ± ۰/۰۲۱ ^B	۲/۹۲ ± ۰/۰۴۳ ^A	

* برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون Tukey در سطح احتمال ۵٪ از نظر آماری فاقد تفاوت معنی‌دار هستند. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است.

دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان تعرق در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه به ترتیب ۵۰٪، ۶۴٪ و ۹۴٪ کاهش یافته است (جدول ۵).

نتایج نشان داد که غلظت دی اکسید کربن با افزایش سطح کلرید سدیم به طور معنی‌داری کاهش یافته است، به طوری‌که در سطوح ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (۱۲ روز بعد اعمال تنش) در مقایسه با شاهد میزان کاهش به ترتیب ۴۰٪ و ۴۸٪ می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که مدت زمان اعمال تنش تأثیر معنی‌داری در سطح ۵٪ بر روی غلظت دی اکسید کربن داشته و افزایش مدت زمان اعمال تنش کاهش غلظت دی اکسید کربن را به همراه دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که غلظت دی اکسید کربن در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه به ترتیب

۲۴٪، ۳۳٪ و ۴۸٪ کاهش یافته است (جدول ۵).

هدایت مزوفیلی با افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش در تمام تیمارها یک روند کاهشی معنی‌دار را نشان داد و کمترین میزان هدایت مزوفیلی (۰/۰۱۲ میلی مول دی اکسید کربن بر متر مربع بر ثانیه) در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و مدت زمان ۱۲ روز بعد تنش مشاهده شد (جدول ۶). نتایج نشان داد که بیشترین میزان کارایی مصرف آب لحظه‌ای (۵/۵۶ میکرومول دی اکسید کربن بر مول آب) در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و مدت زمان ۱۲ روز بعد تنش مشاهده گردید (جدول ۶).

بحث:

نتایج نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش وزن خشک گیاه کاهش یافته است. تحت تنش

کلرید سدیم جذب و استفاده از عناصر معدنی به میزان زیادی کاهش یافته که این عامل یکی از مهمترین دلایل کاهش وزن خشک گیاه است. با توجه به اینکه وزن خشک شاخص مناسبی جهت ارزیابی عملکرد فتوسنتزی می باشد، کاهش این صفت نشان دهنده کاهش میزان فتوسنتز در گیاهان تحت تنش کلرید سدیم می باشد (آقای و همکاران، ۱۳۹۳).

نتایج مربوط به شاخص های کلروفیلی در این تحقیق نشان می دهد که با افزایش غلظت کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم، میزان محتوی کلروفیل a، b و کلروفیل کل در گیاه توتون به طور معنی داری کاهش می یابد. به طوری که کمترین میزان آنها مربوط به سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد اعمال تنش می باشد. نتایج مربوط به کاروتنوئیدها نیز نشان می دهد که میزان کاروتنوئیدها در سطوح کلرید سدیم پایین (۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) افزایش و در سطوح بالاتر کاهش یافته است. به نظر می رسد که افزایش ابتدایی محتوی کاروتنوئیدها مرتبط با نقش حفاظتی این رنگیزه ها باشد و زمانی که گیاه تحت تنش کلرید سدیم قرار گیرد با افزایش میزان کاروتنوئیدهای خود سعی در حفاظت از دستگاه فتوسنتزی و افزایش تحمل نسبت به کلرید سدیم دارد. همچنین، نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان تنش کلرید سدیم از ۲ روز به ۱۲ روز بعد از اعمال تنش میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل کاهش یافته و میزان کاروتنوئیدها در سطوح کلرید سدیم پایین افزایش و در سطوح بالاتر کاهش یافته است.

بررسی محتوی کلروفیل به عنوان جزئی از دستگاه فتوسنتز یکی از راه های اساسی جهت ارزیابی اثرات تنش های محیطی است (Silva-Ortega et al., 2008). به عبارت دیگر فتوسنتز عامل اصلی تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) در کلروپلاست می باشد و ROS می تواند سبب مهار نوری و آسیب رساندن به کلروپلاست شود (Edreva, 2005; Qureshi et al., 2005). زرد شدگی بافت ها یک پاسخ معمولی به تنش کلرید سدیم می باشد و سبب مهار فتوسنتز می شود. بنابراین تجزیه رنگیزه های کلروفیلی یک شاخص مناسب جهت پاسخ گیاهان به تنش

کلرید سدیم می باشد (Jampeetong and Brix, 2009). تنش کلرید سدیم باعث کاهش تعداد پلاستیدها، شکسته شدن کلروپلاست ها، عدم پایداری ترکیبات رنگیزه ای و در نهایت کاهش محتوی کلروفیل می شود (Singh and Dobey, 1995). مطالعات قبلی نشان می دهد که تنش کلرید سدیم تأثیرات منفی روی محتوی کلروفیل داشته، به طوری که تنش کلرید سدیم سبب کاهش محتوی کلروفیل در پنبه (Meloni et al., 2003)، نخل (Youssef and Awad, 2008)، گیاه *Salvinia natans* (Jampeetong and Brix, 2009)، توتون (Celik and Atak, 2012) و تربچه (Munir et al., 2013) شده است. بنابراین نتایج بدست آمده از این تحقیق مشابه نتایج ذکر شده در بالا و به ویژه نتایج مربوط به Celik و Atak (۲۰۱۲) روی توتون می باشد که نشان دادند با افزایش غلظت کلرید سدیم محتوی کلروفیل a و b و میزان کلروفیل کل کاهش می یابد. آنها همچنین نشان دادند که محتوی کاروتنوئیدها تا سطح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم افزایش یافته ولی سپس کاهش یافته و کمترین میزان محتوی کاروتنوئیدها مربوط به سطح ۳۵۰ میلی مولار کلرید سدیم می باشد.

بررسی اثر متقابل تنش کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش بر گیاه توتون نشان داد که افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان تنش هر دو باعث افزایش معنی دار در میزان پرولین شده اند. آنالیز محتوی پرولین نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم محتوی پرولین به عنوان یک اسمو پروتکتانت در برگ افزایش یافته است. انباشتگی پرولین یک پاسخ اولیه و عمومی در تنش های زیستی و غیر زیستی می باشد (Bohnert et al., 1995). مطالعات انجام شده روی میزان پرولین برگ گیاه توتون تحت سطوح مختلف کلرید سدیم به وسیله Razavizadeh و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم تا ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم میزان پرولین برگ حدود ۳ برابر افزایش یافته است، ولی در سطح ۴۰۰ میلی مولار کلرید سدیم میزان پرولین برگ به طور معنی داری کاهش یافته است. همچنین مطالعات انجام گرفته توسط Celik و Atak (۲۰۱۲) روی دو واریته توتون نشان داد

و در نتیجه فتوستتز خالص کاهش معنی‌دار نشان داده‌اند (پاپی موسوی و همکاران، ۱۳۹۳: علیایی و همکاران، ۱۳۹۴).

نتایج مربوط به پارامترهای فتوستتزی نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش میزان شاخص‌های فتوستتزی در گیاه توتون به طور معنی‌داری کاهش یافته است. به طوری‌که کمترین میزان آنها در سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد اعمال تنش گزارش شده است. فتوستتز خالص، هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق، غلظت دی اکسید کربن بین سلولی و هدایت مزوفیلی در سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد اعمال تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۷۴٪، ۹۷٪، ۹۰٪، ۴۸٪ و ۵۹٪ کاهش را نشان دادند.

نتایج نشان داد که در شرایط تنش کلرید سدیم میزان فتوستتز خالص کاهش یافته است. به طور کلی این اعتقاد وجود دارد فاکتورهایی که باعث کاهش فتوستتز خالص می‌شوند شامل محدودیت‌های روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای می‌باشند، اما اینکه عوامل روزنه‌ای، غیر روزنه‌ای یا ترکیبی از هر دو عامل سبب کاهش فتوستتز خالص می‌شود هنوز به طور کامل شناخته نشده است. همان طور که در بالا ذکر شد بسیاری از محققین اعتقاد دارند که محدودیت‌های روزنه‌ای عامل کاهش فتوستتز تحت تنش کلرید سدیم می‌باشد (Koyro, 2006; Lu et al., 2009) و در طرف مقابل عده‌ی دیگری از محققین بر این باورند که محدودیت‌های غیر روزنه‌ای سبب کاهش فتوستتز می‌شوند (Dunn and Neales, 1993; Chartzoulakis et al., 1995; Das, 2008). علاوه بر این دسته دیگری از محققین اعتقاد دارند در شرایطی که تنش کلرید سدیم ملایم می‌باشد یا به عبارتی در سطوح پایین کلرید سدیم عامل اصلی کاهش میزان فتوستتز محدودیت‌های روزنه‌ای می‌باشد و در سطوح بالاتر کلرید سدیم زمانی‌که تنش شدید می‌باشد محدودیت‌های غیر روزنه‌ای عامل اصلی کاهش محسوب می‌شود (Everard et al., 1994; Netondo et al., 2004). به طور کلی تحت شرایط تنش کلرید سدیم میزان فتوستتز خالص کاهش یافته و همراه با آن میزان هدایت روزنه‌ای و نسبت تعرق نیز

که افزایش سطح کلرید سدیم تا ۳۵۰ میلی مولار کلرید سدیم سبب افزایش میزان انباشتگی پرولین در دانه رست‌های هر دو واریته شده است. مطالعات انجام گرفته توسط Razavizadeh و Ehsanpour (۲۰۰۹) نشان داد با افزایش مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم محتوی پرولین برگ افزایش یافته است. نتایج حاصل از این تحقیق نیز تایید کننده نتایج بالا می‌باشد، به طوری‌که با افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش میزان انباشتگی پرولین در برگ افزایش یافته و بالاترین میزان انباشتگی پرولین در سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (روز دوازدهم بعد از اعمال تنش کلرید سدیم) می‌باشد. بنابراین با نقش‌هایی که پرولین در طی تنش کلرید سدیم ایفا می‌کند این قابل توجه می‌باشد که افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش باعث افزایش میزان انباشتگی پرولین شود و همچنین میزان این انباشتگی با تحمل پذیری توتون ارتباط مستقیم دارد.

کاهش در میزان تثبیت دی اکسید کربن در گیاه توتون تحت تنش کلرید سدیم به میزان زیادی به بسته شدن روزنه‌ها وابسته بوده که سبب کاهش غلظت دی اکسید کربن بین سلولی شده و به هدر رفتن آب از طریق تعرق محدود می‌گردد. به نظر می‌رسد این عامل می‌تواند در جلوگیری از کاهش بیشتر پتانسیل آب برگ موثر باشد و بنابراین ظاهراً این یک عامل اساسی جهت جلوگیری از هدر رفتن آب تحت تنش در توتون می‌باشد.

تنش کلرید سدیم به طور معنی‌داری پارامترهای مختلف فتوستتزی را تحت تأثیر قرار داد به طوری‌که با افزایش غلظت کلرید سدیم کاهش در پارامترهای فتوستتزی مشاهده گردید. نتایج بررسی‌ها نشان داد که میزان فتوستتز خالص و هدایت روزنه‌ای به طور مشابهی کاهش یافته است. بنابراین پیشنهاد می‌شود که کاهش فتوستتز خالص عمدتاً به دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای بوده و بسته شدن روزنه ظرفیت فتوستتزی برگ را در توتون تحت تنش کلرید سدیم محدود کرده است، در تایید نتایج حاصل نیز بررسی اثر تنش کلرید سدیم در گیاهان مختلف نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم میزان هدایت روزنه‌ای

Wilson et al.,)، لوبیای چشم بلبلی (Yang and Lu, 2005) و سویا (Lu et al., 2009) بدست آمده و نشان می‌دهد که عامل اصلی کاهش فتوستتوز محدودیت‌های روزنه‌ای می‌باشد. همچنین نتایج بدست آمده از این تحقیق در تناقض با نتایج بدست آمده در گیاهانی از جمله جو (Sharma and Dunn and Neales, 1993; Hall, 1991)، کیوی (*Atriplex portulacoides* L., Chartzoulakis et al., 1995) و *Limoniastrum monopetalum* L. (Das Neves et al., 2008) می‌باشد که نشان می‌دهند که عامل اصلی کاهش فتوستتوز محدودیت‌های غیر روزنه‌ای است.

نتیجه‌گیری کلی:

کاهش در وزن خشک توتون تحت تنش کلرید سدیم احتمالاً به علت کاهش در جذب و استفاده از عناصر معدنی، کاهش در جذب نیتروژن کل، کاهش متابولیسم، کاهش فتوستتوز و یا ترکیبی از همه این فاکتورها می‌باشد. کاهش فتوستتوز خالص ناشی از کاهش هدایت روزنه‌ای بوده و کاهش این دو شاخص با کاهش نسبت تعرق و غلظت دی اکسید کربن بین سلولی توأم شده که بیانگر این واقعیت است که کاهش فتوستتوز در توتون ناشی از بسته شدن روزنه‌ها می‌باشد یا به عبارت دیگر محدودیت‌های روزنه‌ای عامل اصلی کاهش در میزان فتوستتوز در گیاه توتون می‌باشد.

کاهش می‌یابد، اگر در این شرایط غلظت دی اکسید کربن بین سلولی نیز کاهش یافته و سلول‌های مزوفیل هنوز فعال باشند، نشان دهنده این امر است که محدودیت‌های روزنه‌ای عامل اصلی کاهش فتوستتوز بوده است. در مقابل اگر فعالیت سلول‌های مزوفیل کاهش یافته ولی غلظت دی اکسید کربن بین سلولی بدون تغییر یا حتی افزایش یابد و در عوض میزان فتوستتوز خالص، هدایت روزنه‌ای و نسبت تعرقی کاهش یابد، نشان دهنده این واقعیت است که محدودیت‌های غیر روزنه‌ای عامل کاهش فتوستتوز می‌باشد.

عوامل روزنه‌ای به علت بسته شدن روزنه‌ها که ناشی از کاهش هدایت روزنه‌ای (Gs)، نسبت تعرق (Tr)، غلظت دی اکسید کربن بین سلولی (Ci) و فتوستتوز خالص (Pn) می‌باشد (Koyro, 2006; Lu et al., 2009) و عوامل غیر روزنه‌ای شامل کاهش فعالیت PSII، انتقال الکترون و فسفوریلاسیون نوری می‌باشد (Dunn and Neales, 1993; Chartzoulakis et al., 1995; Das Neves et al., 2008).

بنابراین همان‌طور که نتایج نشان داده‌اند، کاهش فتوستتوز در توتون ناشی از بسته شدن روزنه‌ها می‌باشد، یا به عبارت دیگر محدودیت‌های روزنه‌ای عامل اصلی کاهش در میزان فتوستتوز در گیاه توتون می‌باشد. بنابراین، نتایج بدست آمده از این تحقیق در توافق با نتایج قبلی می‌باشد که روی گیاهان مختلفی از جمله پنبه (Brugnoli and Lauteri, 1991)، ذرت

منابع:

- آقای، ک.، طایی، ن.، کنعانی، م. و یزدانی، م. (۱۳۹۳) اثر تنش شوری بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو گونه مریم گلی (*Salvia*). فرآیند و کارکرد گیاهی ۹: ۸۵-۹۶.
- علیایی، ف.، بانی نسب، ب. و قبادی، س. (۱۳۹۴) اثر تنش شوری بر برخی شاخص‌های تبادلات گازی برگ در چهار رقم زیتون. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۲: ۵۱-۵۸.
- پاپی موسوی، ف.، ارزانی، ا. و سعیدی، ق. (۱۳۹۳) ارزیابی تنوع مؤلفه‌های فتوستتوزی در لاین‌های دابل هاپلوئید کلزا و روابط آنها با عملکرد دانه در شرایط مزرعه. فرآیند و کارکرد گیاهی ۸: ۴۷-۵۵.
- Arzani, A. (2008) Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In *Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 44: 373-383.
- Banu, N. A., Hoque, A., Watanabe-Sugimoto, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y. (2009) Proline and glycine betaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. *Journal of Plant Physiology* 30: 166: 146-156.

- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Ben-Asher, J., Tsuyuki, I., Bravdo, B. A. and Sagih, M. (2006) Irrigation of grapevines with saline water. I. Leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. *Agricultural Water Management* 83: 13-21.
- Bohnert, H. J., Nelson, D. E. and Jensen, R. G. (1995) Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell* 7: 1099-1111.
- Brugnoli, E. and Lauteri, M. (1991) Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 non-halophytes. *Plant Physiology* 95: 628-635.
- Celik, O. and Atak, C. (2012) The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties. *Turkish Journal of Biology* 36: 339-356.
- Chartzoulakis, K. S., Therios, I. N., Misopolinos, N. D. and Noitsakis, B. I. (1995) Growth, ion content and photosynthetic performance of salt-stressed kiwifruit plants. *Irrigation Science* 16: 23-28.
- Chaves, M. M., Flexas, J. and Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103: 551-560.
- Das Neves, J. P. C., Ferreira, L. F. P., Vaz, M. M. and Gazarini, L.C. (2008) Gas exchange in the salt marsh species *Atriplex portulacoides* L. and *Limoniastrum monopetalum* L. in southern Portugal. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 91-97.
- Dunn, G. M. and Neales, T. F. (1993) Are the effects of salinity on growth and leaf gas exchange related? *Photosynthetica* 29: 33-42.
- Everard, J. D., Gucci, R., Kann, S. C., Flore, J. A. and Loescher, W. H. (1994) Gas exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Apium Graveolens* L.) at various levels of root zone salinity. *Plant Physiology* 106: 281-292.
- Edreva, A. (2005) Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a sub molecular approach. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 106: 119-133.
- Gunes, A., Inal, A., Guner Bagci, E. and Pilbeam, D. J. (2007) Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. *Plant and Soil* 290: 103-114.
- Jampeetong, A. and Brix, H. (2009) Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis, and proline accumulation of *Salvinia natans*. *Aquatic Botany* 91: 181-186.
- Koyro, H. W. (2006) Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany* 56: 136-146.
- Kumar, K., Kumar, M., Kim, S-R., Ryu, H. and Cho, Y-G. (2013) Insights into genomics of salt stress responses in rice. *Rice* 6 (1):27.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf in different Solvent. *Biochemical Society Transaction* 11: 591-592.
- Lu, K. X., Cao, B. H., Feng, X. P., He, Y. and Jiang, D. A. (2009) Photosynthetic response of salt-tolerant and sensitive soybean varieties. *Photosynthetica* 47: 381-387.
- Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A. and Cambraia, J. (2003) Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 49: 69-76.
- Munir, S., Siddiqi, E. H., Bhatti, K. H., Nawaz, K., Hussain, K., Rashid, R. and Hussain, I. (2013) Assessment of inter-cultivar variations for salinity tolerance in winter radish (*Raphanus sativus* L.) using photosynthetic attributes as effective selection criteria. *World Applied Sciences Journal* 21: 384-388.
- Munns, R., James, R. A. and Lauchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany* 57: 1025-1043.
- Netondo, G. W., Onyango, J. C. and Beck, E. (2004) Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Science* 44: 806-811.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effect on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Qureshi, M. I., Israr, M., Abidin, M. Z. and Iqbal, M. (2005) Responses of *Artemisia annua* L. to lead and salt-induced oxidative stress. *Environmental and Experimental Botany* 53: 185-193.
- Razavizadeh, R. and Ehsanpour A. A. (2009) Effects of salt stress on proline content, expression of delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthetase, and activities of catalase and ascorbate peroxidase in transgenic tobacco plants. *Biology Letters* 46: 63-75.
- Razavizadeh, R., Ehsanpour, A. A., Ahsan, N. and Komatsu, S. (2009) Proteome analysis of tobacco leaves under salt stress. *Peptides* 30: 1651-1659.
- Sharma, P. K. and Hall, D. O. (1991) Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghum. *Journal of Plant Physiology* 138: 614-619.

- Silva-Ortega, C. O., Ochoa-Alfaro, A. E., Reyes-Agüero, A. R., Aguado-Santacruz, G. A. and Jiménez-Bremont J. F. (2008) Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiology and Biochemistry* 46: 82-92.
- Singh, A. K. and Dobey, R. S. (1995) Changes in Chlorophyll a and b content and activities of photosystem I and II in rice seedling induced by NaCl. *Phytosynthetica* 31: 489-499.
- Stepien, P. and Johnson, G. N. (2009) Contrasting responses of photosynthesis to salt stress in the glycophyte *Arabidopsis* and the halophyte *Thellungiella*: role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink. *Plant Physiology* 149:1154-1165.
- Szabados, L. and Savoure, A. (2009) Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Sciences* 15: 89-97.
- Wilson, C., Liu, X., Lesch, S. M. and Suarez, D. L. (2006) Growth response of major USA cowpea cultivars II. effect of salinity on leaf gas exchange. *Plant Science* 170: 1095-1101.
- Yang, X. H. and Lu, C. M. (2005) Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt-stressed maize plants. *Physiologia Plantarum* 124: 343-352.
- Youssef, T. and Awad, M. A. (2008) Mechanisms of enhancing photosynthetic gas exchange in date palm seedlings (*Phoenix dactylifera* L.) under salinity stress by a 5-aminolevulinic acid-based fertilizer. *Journal of Plant Growth Regulation* 27: 1-9.

